

Identification d'une nouvelle salmonelle multirésistante dans une viande de poulet de chair au Sénégal

E. Cardinale¹ J.D. Perrier² A. Aidara² F. Tall³
C. Coudert² I.L. Gueye³ M. Konte³

Mots-clés

Poulet de chair - *Salmonella* -
Sérotype - Analyse microbiologique -
Résistance aux produits chimiques -
Antibiotique - Sénégal.

Résumé

L'analyse microbiologique d'une carcasse de poulet de chair au Sénégal a permis de mettre en évidence un nouveau sérotype de salmonelle. Celui-ci présente la particularité de posséder deux gènes de résistance aux antibiotiques ; il n'est sensible qu'aux quinolones de dernière génération. L'existence de ce nouveau sérotype est inquiétante parce qu'il a été retrouvé dans des prélèvements humains, associé à de l'hyperthermie et de la diarrhée profuse. L'apparition d'une telle salmonelle peut éventuellement s'expliquer par l'utilisation anarchique des antibiotiques dans l'élevage des volailles.

■ INTRODUCTION

Au Sénégal, pour répondre à une démographie citadine sans cesse croissante et à une demande en protéines animales en constante augmentation, une aviculture semi-industrielle de proximité dans l'espace urbain et périurbain s'est développée depuis une dizaine d'années. La région de Dakar regroupe l'essentiel de cette activité dans un rayon de 100 km autour de la capitale et représente 6 millions de poulets de chair sur une année. De 1992 à 1998, cette production a augmenté de 16 p. 100 passant de 6 000 à plus de 7 000 tonnes par an. L'amélioration de la productivité a permis de réduire les coûts de production et, aujourd'hui, le poulet produit par ces élevages modernes fournit la viande la moins chère aux consommateurs sénégalais (1 350 F CFA le kilogramme).

Cependant, s'il veut résister à la concurrence des morceaux de découpe congelés importés (cuisses, ailes), il est essentiel de contrôler sa qualité, notamment du point de vue sanitaire. En effet, le consommateur sénégalais, très sensibilisé aux crises de la vache

folle et de la dioxine, devient exigeant et souhaite, à l'instar de son homologue des pays occidentaux, avoir accès à des aliments dont l'innocuité est vérifiée.

Dans cet esprit, le laboratoire de pathologie aviaire de l'Isra-Inerv a entrepris d'examiner la qualité microbiologique de la viande de poulet de chair afin d'estimer notamment le risque qu'il peut représenter pour la santé publique.

Cette communication n'a pas eu pour but de présenter les résultats de cette étude qui se poursuit mais d'informer le monde scientifique de l'existence d'un nouveau sérotype de salmonelle, multirésistant aux antibiotiques, identifié au cours d'une analyse de laboratoire.

■ MATERIEL ET METHODES

L'étude, qui a débuté en novembre 1999, a porté sur l'analyse de carcasses (peau et muscle) de poulets de chair préparées dans les différentes tueries de la place, que celles-ci soient situées dans les élevages ou dans les marchés de la ville. L'analyse bactériologique a porté sur la Famt (flore aérobie mésophile totale), les coliformes thermotolérants, les staphylocoques présumés pathogènes, les *Campylobacter* et les salmonelles.

1. Cirad-emvt/Isra-Inerv, BP 2057, Dakar-Hann, Sénégal

2. Institut Pasteur, BP 220, Dakar, Sénégal

3. Isra-Inerv, BP 2057, Dakar-Hann, Sénégal

La technique utilisée pour la recherche des salmonelles était classique : un morceau de peau (sur le bréchet) et un cube de viande (muscle du bréchet) ont été prélevés dans de parfaites conditions d'asepsie (bec bunsen), puis mélangés avec un milieu de pré-enrichissement (eau peptonée) et introduits dans un sachet Stomacher. Le mélange a ensuite été fractionné dans un Stomacher (broyeur Prolab) et la solution a été mise en incubation à 37 °C pendant 24 heures. Un millilitre du milieu de pré-enrichissement a été ajouté dans un tube contenant environ 10 ml de bouillon sélénite de sodium pour enrichissement. Le mélange a été incubé à 37 °C pendant 24 heures. Enfin, l'isolement a été fait sur gélose Hectoen solidifiée dans une boîte de pétri. La boîte a été incubée à l'étuve à 37 °C pendant 24 heures.

L'identification des salmonelles s'est poursuivie par les tests biochimiques (galerie API 20 E, bioMérieux). Le laboratoire du Centre national sénégalais des entérobactéries (Institut Pasteur de Dakar) a effectué le sérotypage suivant la technique de Kauffman pour les antigènes de paroi (O) et flagellaires (H) et un antibiogramme (diffusion en milieu gélosé) avec recherche de bêta-lactamase à spectre (enzyme hydrolysant les céphalosporines de 3^e génération) (10).

L'identification du mécanisme de résistance a été réalisée à l'Institut Pasteur de Paris par pcr spécifique des gènes TEM. Une électrophorèse en gel d'agarose a enfin permis de préciser la structure génique.

■ RESULTATS

La souche de salmonelle a été identifiée à partir d'un prélèvement de muscle. Sa formule antigénique était 35 : c : 1, 2. L'antibiogramme a montré une résistance à la plupart des antibiotiques couramment utilisés en médecine humaine (ampicilline, tobramycine, gentamicine, triméthoprim-sulfaméthoxazole, tétracycline, chloramphénicol), excepté les quinolones. La souche a également présenté une bêta-lactamase à spectre. Les analyses moléculaires ont permis de montrer que la souche hébergeait deux gènes de résistance dont une TEM-1 (figure 1) ; le second était une SHV12 (point isoélectrique et séquençage).

■ DISCUSSION ET CONCLUSION

L'association entre les salmonelles et la viande de poulet n'est pas nouvelle puisque celle-ci apparaît comme la denrée alimentaire d'origine animale la plus souvent incriminée dans les toxi-infections alimentaires collectives (4). Les modes de contamination et de dissémination sont très variés et tous les maillons de la filière peuvent être incriminés (13, 18) : le phénomène de transmission verticale a notamment été démontré pour quelques sérovars dans plusieurs élevages reproducteurs ; les couvoirs peuvent devenir des sources de contamination horizontale si les conditions d'hygiène sont défectueuses dans les éclosiers et dans les incubateurs ; les élevages sont des sites privilégiés d'intercontamination lorsque plusieurs paramètres peuvent apparaître potentiellement favorables (salmonelles résidentes, vecteurs animés, aliment...).

Les opérations ultérieures d'abattage et de transformation constituent aussi des étapes à risque pour l'introduction ou la diffusion des salmonelles. Le risque de contamination par les salmonelles se situe à différents points de la chaîne (14) :

- à l'échaudage, où la contamination peut être due au nettoyage ou à la désinfection mal effectués des bacs, à la contamination du plu-

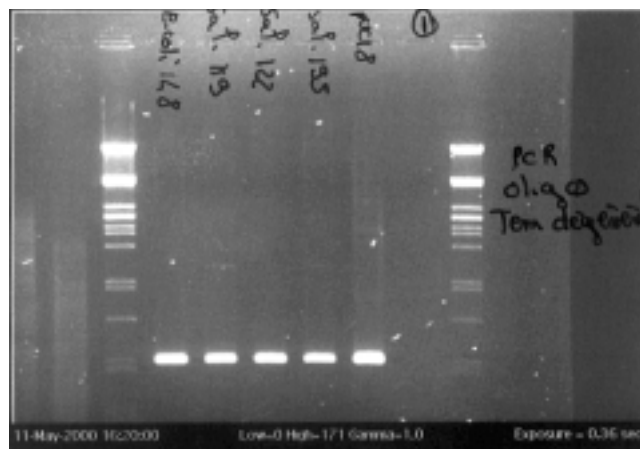


Figure 1 : électrophorèse en gel des produits de pcr des bêta-lactamases de type TEM.

mage des animaux, à la contamination par les fientes des animaux qui sont libérées lors du relâchement sphinctérien consécutif à la mort et à la contamination des pattes des animaux. Cette étape est le siège d'importantes contaminations croisées, d'autant plus quand la température est basse. Cependant, une température trop élevée est aussi déconseillée en raison de l'abrasion cutanée qu'elle provoque et qui facilite ensuite la pénétration de salmonelles cutanées ;

- à la plumaison. Lors de la plumaison mécanique, trois phénomènes peuvent intervenir : la pression exercée par les doigts plumeurs entraîne un transfert de la contamination des plumes gorgées d'eau d'échaudage vers les follicules plumeux et la surface de la peau ; les doigts plumeurs lorsqu'ils sont sales peuvent constituer une source de contamination supplémentaire de micro-organismes ; enfin, au cours de cette étape, on observe un refroidissement progressif de la surface de la peau du fait de l'arrosage de la carcasse par l'eau de rinçage des plumeuses qui entraîne une fermeture des follicules plumeux, enfermant alors des germes. La plumaison manuelle à sec est moins contaminante à condition que la personne assurant la plumaison se nettoie régulièrement les mains entre deux poulets ; sinon, elle intervient aussi comme vecteur de contamination croisée ;

- à l'éviscération, si l'intestin se rompt dans la carcasse et libère les matières fécales sur le muscle. Dans tous les cas, le manipulateur dont les mains sont souillées intervient aussi dans la contamination ;

- au rinçage de la carcasse en fin d'éviscération. Ce rinçage n'est pas très indiqué car il facilite l'adhésion des bactéries en créant un biofilm à la surface de la carcasse.

Ce sérotype de salmonelle n'a jamais été décrit précédemment (11), alors que le spectre élargi aux bêta-lactamases l'a été pour ce qui concerne les souches nosocomiales appartenant aux entérobactéries du genre *Klebsiella*, *Escherichia*, *Enterobacter* et *Proteus*. Cependant, il a rarement été associé au genre *Salmonella* (1, 15). En médecine humaine, les premières souches ont été détectées en France en 1984 et 1987 (*S. typhimurium*), en Tunisie en 1988 (*S. wien*), en Algérie en 1990 (*S. mbandaka*) et en Argentine en 1991 (*S. typhimurium*) (1, 3, 7, 12). Il s'agit de mécanismes de résistance qui s'opposent aux mutations intrinsèques du micro-organisme ; ce mécanisme de résistance de type TEM fait en effet

appel à des transmissions de matériel génétique par des plasmides (5, 6). Mais, les types de mécanismes de résistance à spectre élargi face aux bêta-lactamines identifiées chez les salmonelles étaient jusqu'à présent SHV-2, CTX-2, CTX-M2, TEM-27, CTX-M5 et PER-1 (1, 7, 8, 9, 12, 17).

La souche identifiée dans la viande de poulet n'était pas résistante aux quinolones. Certaines souches, aux Etats-Unis ou au Royaume-Uni, ont présenté une multirésistance y compris aux quinolones (8, 16).

Consécutivement à la découverte de cette souche de salmonelle chez le poulet de chair, le même sérotype présentant les mêmes résistances aux antibiotiques a été identifié à cinq reprises à l'Hôpital principal de Dakar sur des échantillons humains.

L'apparition d'une telle résistance peut éventuellement s'expliquer par l'usage anarchique des antibiotiques en aviculture. En effet, les contraintes sanitaires représentent une pression constante sur les élevages de poulet de chair et les aviculteurs n'hésitent pas à recourir aux antibiotiques, à l'aveugle, pour essayer de juguler les problèmes de mortalité et les prises de poids médiocres associées et ainsi tenter de diminuer leur coût de production. Pourtant, les vétérinaires en place tentent d'inculquer aux éleveurs des règles de prophylaxie sanitaire et médicale pour essayer de maîtriser sérieusement ces contraintes pathologiques et ils essaient, en vain, de limiter l'automédication. La contamination de la viande par le manipulateur n'est pas non plus à exclure ! Une analyse plus poussée est en cours de réalisation pour identifier avec précision cette nouvelle souche de salmonelle.

BIBLIOGRAPHIE

1. BAUERNFEIND A., CASELLAS J.M., GOLDBERG M., HOLLEY M., JUNGWIRTH R., MANGOLD P., ROHNISCH T., SCHWEIGHART S., WILHELM R., 1992. A new plasmidic cefotaximase from patients infected with *Salmonella typhimurium*. *Infection*, **20**: 158-163.
2. BRADFORD P.A., YANG Y., SAHM D., GROP I., GARDOVSKA D., STORCH G., 1998. CTX-M5, a novel cefotaxime hydrolysing lactamase from an outbreak of *Salmonella typhimurium* in Latvia. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **42**: 1980-1984.
3. CASIN I., BRISABOIS A., BERGER N., BREUI J., COLLATZ E., 1996. Phénotypes et génotypes de résistance de 182 souches de *Salmonella* sérotype *typhimurium* résistantes à l'ampicilline d'origine humaine et animale. *Méd. Mal. infect.*, **26**: 426-430.
4. COLIN P., 1992. *Salmonella* et qualité des produits avicoles, 1992. In : Brugère-Picoux J., Silim A. Eds, Manuel de pathologie aviaire. Maisons-Alfort, France, Ecole nationale vétérinaire, p. 371-374.
5. COURVALIN P., 1997. Stratégie évolutive des résistances aux antibiotiques. *Méd. théor. Antibiot.*, **3** (hors série) : 19-23.
6. GAZOULI M., SIDORENKO S.V., TZELEPI E., KOZLOVA N.S., GLADIN D.P., TZOUVELEKIS L.S., 1998. A plasmid-mediated-lactamase conferring resistance to cefotaxime in *Salmonella typhimurium* clone found in St. Petersburg, Russia. *J. Antimicrob. Chemother.*, **41**: 119-121.
7. HAMMAMI A., ARLET G., BENREDJEB S., GRIMONT F., BEN HASSEN A., PHILIPPON A., 1991. Nosocomial outbreak of acute gastroenteritis in neonatal intensive care unit in Tunisia caused by multiple drug resistant *Salmonella wien* producing SHV-2 beta-lactamase. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, **10**: 641-646.
8. HOSEK G., LESCHINSKY D., IRONS S., SAFRANEK T.J., 1997. Multidrug-resistant *Salmonella* serotype *typhimurium* in the United States. *Morbid. Mortal. Wkly Rep.*, **46**: 308-310.
9. MOROSINI M.I., CANTON R., MARTINEZ-BELTRAN J., NEGRI M.C., PEREZ-DIAZ J.C., BAQUERO F., BLAZQUEZ J., 1995. New extended-spectrum TEM-type-lactamase from *Salmonella enterica* subsp. *enterica* isolated in a nosocomial outbreak. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **39**: 458-461.
10. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, Vol. 19, 9th informational supplement, 1999. Wayne, PA, USA, National Committee for Clinical Laboratory Standards.
11. POPOFF M.Y., LE MINOR L., 1977. Antigenic formulas of the *Salmonella* serovars, 7th revision, WHO/Collaborating Center for Reference and Research on *Salmonella*. Paris, France, Institut Pasteur.
12. POUPART M.C., CHANAL C., SIROT D., LABIA R., SIROT J., 1991. Identification of CTX-2, a novel cefotaximase from a *Salmonella mbandaka* isolate. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **35**: 1498-1500.
13. ROZIER J., CARLIER V., BOLNOT F., 1985. Bases microbiologiques de l'hygiène des aliments. Paris, France, Sepaic, p. 230.
14. SALVAT G., 1997. Prévention des problèmes de santé publique liés aux produits issus de la filière avicole. *Bull. Acad. vét. France*, **70**: 43-68.
15. SOUSSY C.J., 1997. Etat actuel de la résistance aux antibiotiques. *Méd. théor. Antibiot.*, **3** (hors série) : 24-35.
16. THRELFALL E.J., HAMPTON M.D., SCHOFIELD S.L., WARD L.R., FROST J.A., ROWE B., 1996. Epidemiological application of differentiating multiresistant *Salmonella typhimurium* DT 104 by plasmid profile. *Commun. Dis. Rep.*, **6**: 155-158.
17. VAHABOGLU H., DODANLI S., EROGLU C., OZTURK R., SOYLETIR G., YILDIRIM I., AVKAN V., 1996. Characterization of multiple-antibiotic-resistant *Salmonella typhimurium* strains: molecular epidemiology of PER-1-producing isolates and evidence for nosocomial plasmid exchange by a clone. *J. Clin. Microbiol.*, **34**: 2942-2946.
18. WRAY C., DAVIES R.H., EVANS S.J., 1997. *Salmonella* infection in poultry: the production environment. In: Richardson R.I., Mead G.C. Eds., Wallingford, UK, *Poult. Meat Sci.*, **5**: 257-276.

Reçu le 18.07.00, accepté le 18.10.00

Summary

Cardinale E., Perrier J.D., Aidara A., Tall F., Coudert C., Gueye I.L., Konte M. Identification of a new multiresistant *Salmonella* strain in broiler chickens in Senegal

Microbiological analysis of a broiler chicken carcass revealed the presence of a new *Salmonella* serotype. It is characterized by two genes that express resistance to antibiotics, except to the very last quinolones. This serotype poses a threat as it has been found in human samples in association with high temperature and diarrhea. The onset of this *Salmonella* may result from the anarchic use of antibiotics in poultry production.

Key words: Broiler chicken - *Salmonella* - Serotype - Microbiological analysis - Resistance to chemicals - Antibiotics - Senegal.

Resumen

Cardinale E., Perrier J.D., Aidara A., Tall F., Coudert C., Gueye I.L., Konte M. Identificación de una nueva salmonela con resistencia múltiple en una carne de pollo de engorde en Senegal

El análisis microbiológico de una carcasa de pollo de engorde en Senegal permitió demostrar un nuevo serotipo de salmonela. Este presenta la particularidad de poseer dos genes de resistencia a los antibióticos, siendo sensible únicamente a las quinolonas de última generación. La existencia de este nuevo serotipo es inquietante, ya que este fue encontrado en muestras humanas, asociadas a hipertermia y diarrea profusa. La aparición de una tal salmonela puede eventualmente explicarse por la utilización anárquica de antibióticos en los criaderos de aves.

Palabras clave: Pollo de engorde - *Salmonella* - Serotipo - Análisis microbiológico - Resistencia a productos químicos - Antibiótico - Senegal.